Aus der Abteilung für Krebsforschung des Kgl. Instituts für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M.
(Direktor Geh. Med. Rat Prof. Dr. P. Ehrlich.)

Erwiderung auf den Artikel des Herrn Dr. Bashford: Einige Bemerkungen zur Methodik der experimentellen Krebsforschung.

Von

Prof. **P. Ehrlich** und Dr. **H. Apolant.**

(Sonderabdruck aus der Berliner klin. Wochenschr., 1906, No. 21.)

WELLCOME INSTITUTE LIBRARY
Coll. welMOmec
Call No. pam QZ 200 1906 E33oZ

Sonderabdruck aus der Berliner klin. Wochenschr., 1906, No. 21.

Aus der Abteilung für Krebsforschung des Kgl. Instituts für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M.
(Direktor Geh. Med. Rat Prof. Dr. P. Ehrlich.)

Erwiderung auf den Artikel des Herrn Dr. Bashford: Einige Bemerkungen zur Methodik der experimentellen Krebsforschung.

Von

Prof. P. Ehrlich und Dr. H. Apolant.

In No. 16 dieser Wochenschrift wendet sich Bashford gegen die von uns vertretene Anschauung, dass die Sarkomentwicklung bei fortgesetzten Carcinomimpfungen auf Mäuse, die wir nunmehr dreimal beobachtet haben, und die in einem 4. Stamme unseres Materials ebenfalls zu beginnen scheint, auf einer gesteigerten Proliferation mitüberpflanzter, in ihrer Virulenz durch irgend welche Momente veränderter Stromazellen beruht. Der lebhafte Ton der Bashford'schen Ausführungen und die kategorische Sicherheit seiner Behauptungen berühren um so eigentümlicher, als sie sich auf einen Gegenstand beziehen, über den der Autor eigene Erfahrungen überhaupt nicht besitzt. Seine theoretische Spekulation ist folgende: Da er den Nachweis erbracht zu haben glaubt, dass das bei den Carcinomimpfungen mitüberpflanzte Stroma ausnahmslos zugrunde geht und durch ein neues, von dem Wirtstier geliefertes Stroma ersetzt wird, mithin zwischen den Parenchym- und Stromazellen der transplantierten Tumoren der prinzipielle Unterschied besteht, dass die ersteren durch Proliferation übertragener Zellen, also aus sich heraus wachsen, die letzteren dagegen stets von dem Wirtstier geliefert werden, so hält er es für ausgeschlossen, dass sich das transplantable Sarkom — die Richtigkeit der Diagnose vorausgesetzt — aus dem Krebsstorma entwickelt hat. Es scheint uns zu-

nächst nicht zulässig, dass Bashford auf Grund seiner nicht sehr ausgedehnten Erfahrungen, die sich nur auf den Jensen'schen, sowie 6 eigene Stämme beziehen, berechtigt ist, das jedesmalige Zugrundegehen des Krebsstromas bei den Transplantationen in dogmatischer Form zu behaupten; zumal es sich in allen seinen Fällen (dies gilt auch für den Jensen'schen Stamm) um keine höchstvirulenten Tumoren handelt. Ist es ihm doch bei einer minimalen Impfausbeute nie gelungen, seine eigenen Stämme über die 3. Generation hinaus fortzuzüchten. Zu wie fehlerhaften Resultaten gerade auf dem Gebiete der Mäusecarcinome eine Verallgemeinerung an Zahl beschränkter Erfahrungen führen kann, ergibt sich deutlich aus den Impfresultaten unserer Spontantumoren. Wir haben wiederholt hintereinander 20 und mehr derartiger Tumoren vergeblich zu übertragen versucht, ohne daraus den Schluss ziehen zu können, dass die Mäusegeschwulst überhaupt nicht zu übertragen sei. Wenn daher eine 20 mal gemachte Erfahrung keine bindenden Schlüsse zulässt, so wird man dies einer nur 7 mal erprobten gewiss nicht zuerkennen können. Jensen selbst, welcher zuerst in systematischer Weise derartige Studien angestellt, drückt sich denn auch wesentlich vorsichtiger aus, wenn er sagt: „Was aus dem ursprünglichen, jetzt hyalin umgebildeten Bindegewebe wird, das mit absoluter Sicherheit festzustellen war mir nicht möglich. Es scheint, als ob dasselbe allmählich von der Peripherie an nach innen von Fibroplasten und kleinen Gefässen durchwachsen wird, und aller Wahrscheinlichkeit nach verfällt es deshalb gradweise der Resorption; möglicherweise bleibt ein Teil desselben doch auch erhalten."[1])

Bashford lässt nur drei Erklärungsmöglichkeiten für unsere Beobachtung zu, über die seiner Ansicht nach eine Entscheidung noch aussteht. Nämlich erstens, dass von Anfang an Mischgeschwülste bestanden, zweitens, dass sich ein infektiöses Granulom auf dem Boden eines Carcinoms entwickelt hat, und drittens, dass ein wahres Sarkom auf eingeführtem Stroma oder Reaktionsgewebe des Wirtes während der Uebertragung des Carcinoms entstanden ist.

Was nun die erste dieser Möglichkeiten betrifft, so haben wir bereits in früheren Publikationen kurz erwähnt, dass die Annahme primärer Mischgeschwülste bei den die Sarkom-

1) Bei Jensen nicht gesperrt gedruckt.

entwicklung zeigenden Stämmen durchaus unberechtigt ist. Weder in den Ausgangstumoren, noch in den ersten Impfserien weicht das mikroskopische Bild von dem Typus des gewöhnlichen Mäusecarcimons ab. Andererseits scheint Bashford ganz zu übersehen, dass die von ihm als möglich hingestellte Sarkomentwicklung aus einer Mischgeschwulst sich zwar vollkommen mit der von uns vertretenen Anschauung vereinbaren lässt, seiner eigenen Erklärung dagegen direkt widerspricht. Wollte man nämlich in der gelegentlich etwas reicheren Stromaentwicklung das Zeichen einer Mischgeschwulst sehen, wie es v. Hansemann bei dem einen unserer Ausgangstumoren für nicht ganz ausgeschlossen gehalten hat (eine Anschauung übrigens, die von keinem der zahlreichen Fachpathologen, die die Präparate gesehen haben, geteilt wird), so würde diese Mischgeschwulst nach dem Schema des Carcinoma sarcomatodes gebaut sein. In diesem Falle aber entspricht der sarkomatöse Anteil dem Krebsstroma. Er ist ja nichts weiter als ein durch Reichtum, Grösse und Proliferationskraft der Zellen ausgezeichnetes Stroma. Mithin würde Bashford bei der Annahme einer primären Mischgeschwulst die Transplantierungsmöglichkeit des Stromas, die er erst geleugnet hat, wieder zugeben. Diese erste Möglichkeit steht also in vollem Einklange mit unseren, und in direktem Widerspruch zu B.'s eigenen Annahmen.

Wir kommen nun zu der zweiten Möglichkeit, dass nämlich unsere Sarkome infektiöse Granulome darstellen, die sich auf dem Boden eines Carcinoms entwickelt haben. Wir bemerken zu diesem Punkt zunächst, dass unsere Diagnose die Bestätigung einer Anzahl Fachpathologen wie Weigert, Ribbert, Albrecht, Aschoff, Borst, v. Hansemann, Pick, Schmorl u. a. erfahren hat, deren auf eigener Anschauung beruhendes Urteil wohl höher einzuschätzen ist als reine Vermutungen eines Forschers, der nie eins unserer Präparate gesehen hat und daher nicht berechtigt ist, seinen Artikel mit den Worten zu schliessen: „es wäre jedoch müssig, solche Fragen zu diskutieren, ehe die Gewähr da ist, dass hier tatsächlich ein Sarkom vorhanden ist".

Während zwei unserer Sarkome einen etwas polymorphen Zellcharakter aufweisen, wie er häufig auch in menschlichen Sarkomen gefunden wird, stellt das zuerst von uns beobachtete ein reines Spindelzellensarkom dar, das ausschliesslich aus einander durchflechtenden Zügen besteht und den Typus dieser Geschwulstformation in exquisitester Weise darbietet. Es ist uns,

und vermutlich auch Bashford, nicht bekannt, dass unter den infektiösen Granulomen Bildungen von diesem histologischen Bau vorkommen. Die ganze menschliche Onkologie geriete ins Wanken, wenn für jedes typische Spindelzellensarkom der Nachweis erbracht werden müsste, dass es kein infektiöses Granulom darstellt.

Wir wollen es jedoch nicht unterlassen, auch noch die biologischen Momente anzuführen, die mit der Annahme eines infektiösen Granuloms schlechterdings nicht zu vereinbaren sind. Die Wuchskraft der in Frage stehenden Tumoren ist eine so enorme, dass häufig schon in wenigen Wochen Tumoren von der Grösse einer Pflaume entstehen. Geschwülste, deren Gewicht 6—8 Wochen nach der Impfung dem des Tieres mindestens gleichkommt, gehören keineswegs zu den Seltenheiten. Diese enorme Proliferationskraft, die sich von der unserer schnellstwachsenden Carcinome nicht im mindesten unterscheidet, ist unseres Wissens noch nie bei einem infektiösen Granulom beobachtet worden. Allerdings können wir es begreifen, dass ein Forscher, der nie einen wirklich hochvirulenten Tumor in Händen gehabt hat, sich keine klare Vorstellung von der enormen Wuchskraft zu machen imstande ist, die wir über 80 Generationen jetzt beobachten.

Ein weiteres wichtiges Moment gegen die Auffassung unserer Sarkome als infektiöse Granulome bilden die Ergebnisse der Immunisierung, die ganz klar zeigen, dass man sowohl mit Carcinom als auch mit Sarkom gegen Carcinom und Sarkom immunisieren kann, dass also innerhalb dieses Rahmens eine Geschwulstpanimmunität besteht. Diese Resultate sind verständlich, wenn man annimmt, dass sich die Immunität in beiden Fällen gegen ein analoges Virus richtet, nämlich gegen Zellen, die dem Mäuseorganismus entstammen, sie werden dagegen völlig unverständlich, wenn sie sich das eine Mal gegen Körperzellen und das andere Mal gegen einen fremdartigen Parasiten richten sollen. Die Unhaltbarkeit dieser Anschauung wird ohne weiteres einleuchten, wenn man sich vorstellen sollte, dass ein Mensch, der gegen Epithelzellen immunisiert ist, nunmehr auch Schutz erlangt hat gegen Infektionsgeschwülste, die auf einem syphilitischen oder tuberkulösen oder aktinomykotischen Virus beruhen.

Was endlich die dritte in Erwägung gestellte Möglichkeit betrifft, dass nämlich ein wahres Sarkom aus eingeführtem Stroma oder Reaktionsgewebe des Wirts während der Uebertragung

eines Carcinoms entstanden ist, so ist diese Anschauung absolut dieselbe, die auch wir vertreten. Dass der Autor einen künstlichen Gegensatz zwischen seinen und unseren Anschauungen konstruiert, liegt wohl nur an dem Fehlen zweier Kommata, die in unserer zweiten Erklärung die Worte „bei fortgesetzten Transplantationen“ einzufassen haben. Denn gerade auf diese „fortgesetzten Transplantationen“ legen wir das Hauptgewicht und sind allerdings der Meinung, dass, wenn auch im allgemeinen das Stroma transplantierter Carcinome zugrunde gehen mag, ein biologisch verändertes, d. h. in seiner Poliferationsenergie gesteigertes Stroma sehr wohl im Wirtstier haften und genau wie die Krebszellen selbst weiterwuchern kann. Ist dies erst einmal eingetreten, so lassen wir die Möglichkeit einer weiteren Virulenzsteigerung mit der Fortsetzung der Transplantation durchaus zu.

Allerdings ist es für uns schwierig, mit Bashford über diese Frage zu diskutieren, da wir nicht zugeben können, dass er trotz seiner bestimmten Angaben eine wirkliche Virulenzsteigerung je gesehen hat. Genau so, wie der Bakteriologe dann von einer Virulenzsteigerung spricht, wenn es ihm gelingt, z. B. einen schwach virulenten Streptococcus, der bei der ersten Impfung noch schlecht angeht, durch accomodative Züchtung zu starker Vermehrung im Tierkörper zu bringen, sprechen auch wir von einer Steigerung der Tumorvirulenz, wenn wir imstande sind, die Proliferationsenergie einer spontan entstandenen Geschwulst, die bei der ersten Impfung nur in etwa 5—10 pCt. anging, durch fortgesetzte Tierpassagen so zu steigern, dass schliesslich ein optimaler Impferfolg, d. h. eine Impfausbeute bis zu 100 pCt erzielt wird.

Wie verhalten sich hierzu nun die Erfahrungen Bashfords? Wenn wir von den schon in der ersten Generation gänzlich negativ verlaufenen Impfungen absehen, so sind die Impfresultate in den von ihm selbst angelegten Stämmen, wie die beifolgende tabellarische Uebersicht ergibt, derartige, dass er höchstens berechtigt wäre, von einer Virulenzverminderung zu reden.

Nun beschreibt Bashford aber, dass er an dem Jensen'schen Stamm eine Virulenzsteigerung beobachten konnte, die ein in Perioden von etwa 200 Tagen erkennbares Schwanken aufwies. Er stellt dieses Schwanken in Form einer wellenförmig verlaufenden Kurve dar. Dabei ist zunächst schon auffällig, dass die Kurve nur etwa zwischen 20 und 40 pCt. Impfausbeute schwankt, die Virulenz also hinter der von Jensen früher erhaltenen, bis zu

Stamm	Generation	Zahl der Impfungen	Vorzeitig gestorbene Tiere	Positives Impfresultat
II.	Erste	69	12	2
	Zweite	16	—	0
		26	26	—
IV.	Erste	133	121	1
	Zweite	24	—	1
	Dritte	208	—	2
	Vierte	120	—	0
		52	52	—
V.	Erste	243	67	1
	Zweite	183	40	0

60 pCt. Impfausbeute, wesentlich zurücksteht. Um wieder auf das bakteriologische Beispiel zurückzugreifen, so ist die Bashford'sche Beobachtung mit folgender Erscheinung zu analogisieren: Wenn in einem Laboratorium eine bestimmte, z. B. stark giftbildende Diphtheriekultur erzielt worden ist, und diese nun, wie es so häufig geschieht, in ein anderes Laboratorium versandt wird, so zeigen die Kulturen in den ersten Abimpfungen, auch wenn dieselben auf Nährböden, die genau nach den Angaben des ersten Laboratoriums bereitet sind, häufig ein ungenügendes Wachstum, das jedoch nach einigen Passagen sich bessert. Es handelt sich hier um geringe Differenzen der Nährböden, die auf kleinen Nebenumständen (verschiedenem Fleisch etc.) beruhen, an die sich der Bacillus mit der Zeit erst accomodieren muss. Von einer wirklichen Virulenzsteigerung kann aber nur dann die Rede sein, wenn die ursprüngliche Giftbildung tatsächlich übertroffen, nicht aber, wenn sie nicht einmal erreicht wird.

Die Jensen'schen Tumoren gingen bei Bashford anfangs schlecht an, weil er sie zunächst auf einen fremdartigen Boden, nämlich auf englische Mäuse übertrug. Erst allmählich trat die Adaption an diesen Nährboden ein, wodurch das Wachstum besser wurde, ohne jedoch die ursprüngliche, von Jensen beobachtete Energie zu erreichen. Die von Bashford beobachteten Differenzen haben nicht im mindesten die Bedeutung periodischer Schwankungen, da sie, wie wir auf Grund unseres viel umfänglicheren Materials behaupten dürfen, und wie auch Jensen schon angedeutet hat, häufig und in ganz unregelmässiger Form auf-

treten und offenbar von zahlreichen Zufälligkeiten abhängen, die mit Tumorimpfungen notwendigerweise verknüpft sind.

Wir können daher keinen einzigen der von Bashford gegen uns erhobenen Einwände eine Berechtigung zuerkennen und hätten es daher für richtig gehalten, wenn der Autor eine Polemik in Fragen nicht erst begonnen hätte, in denen ihm eigene Erfahrungen fehlen. Wir selbst haben unter Vermeidung überflüssiger Polemik uns stets bemüht, nach dem Motto eines berühmten englischen Forschers „facta non verba", Tatsachen beizubringen, dieselben aber nicht eher zu veröffentlichen, als bis sie uns genügend gesichert schienen, selbst auf die Gefahr hin, die Priorität zu verlieren. So hätten wir schon nach den ersten 20 Beobachtungen mitteilen können, dass sich die Spontangeschwülste der Maus in unserem Material nur bei Weibchen finden und ausschliesslich Brustdrüsengeschwülste darstellen. Wir haben jedoch mit der Publikation so lange gewartet, bis ein sehr grosses und Zufälligkeiten ausschliessendes Material von über 200 Mäusen diese Frage absolut sichergestellt hat. Auch die Sarkomentwicklung haben wir nicht eher veröffentlicht, als bis wir durch ihre mehrfache Beobachtung und durch ein vielmonatliches Studium den Vorgang so weit erforscht zu haben glaubten, als es mit den zurzeit zur Verfügung stehenden Mitteln möglich ist. Wir haben hierbei einen Uebergang von Epithel- in Bindegewebszellen absolut ausgeschlossen und uns nur in ganz hypothetischer Weise darauf beschränkt, mehrere Erklärungsmöglichkeiten des überaus interessanten Vorganges anzudeuten. Eine Veranlassung, hiergegen in scharf polemischer Weise vorzugehen, wie es Bashford seinerzeit getan hat, lag sachlich nicht im geringsten vor, und wir glaubten damals nur von unserem guten Recht Gebrauch zu machen, wenn wir diese nicht gerechtfertigten Einwände zurückgewiesen haben.

Druck von L. Schumacher in Berlin N. 24.